

|             |   |
|-------------|---|
| Title       | Necrostatin - 7 suppresses RANK - NFATc1 signaling and attenuates macrophage to osteoclast differentiation( Abstract_要旨 ) |
| Author(s)   | Fuji, Hiroaki   |
| Citation    | Kyoto University (京都大学)   |
| Issue Date  | 2019-03-25  |
| URL         | <a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k21622">https://doi.org/10.14989/doctor.k21622</a>                               |
| Right       |   |
| Type        | Thesis or Dissertation  |
| Textversion | ETD   |

|  |   |     |      |
|--|---|-----|------|
| 京都大学   | 博士（医学）  | 氏 名 | 藤 浩明 |
| 論文題目   | Necrostatin-7 suppresses RANK–NFATc1 signaling and attenuates macrophage to osteoclast differentiation.<br>(ネクロスタチン-7はRANK–NFATc1 シグナルと破骨細胞分化を抑制する) |     |      |
| (論文内容の要旨)  |   |     |      |
| <p>【背景】骨は、肺・肝臓に次いで他の部位からの癌転移が多い臓器であり、肝細胞癌患者では、その約 3～20% に骨転移が認められる。癌の骨転移病態では、破骨細胞が過剰に活性化することで骨吸収が亢進し、溶骨性転移病巣が形成されるとともに、骨量減少に伴う骨折や、疼痛など症状が生じる。それゆえ薬剤による破骨細胞の分化や活性の制御は、骨破壊病態の治療戦略の一つとして重要である。ネクロスタチン-7 (Nec-7) はプログラム細胞死の一つであるネクロプトーシスの阻害剤として合成された薬剤であるが、その作用機序については不明な点が多く、ネクロプトーシス阻害以外にも生理活性を有すると考えられている。本研究では Nec-7 が破骨細胞分化に与える影響について検証した。</p> <p>【方法】C57BL/6 マウス（6～11 週齢）の骨髄細胞を採取し、macrophage colony-stimulating factor (M-CSF; 10 ng/ml) で刺激・培養することで破骨細胞前駆細胞を得た。破骨細胞前駆細胞を receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL; 50 ng/ml) で刺激・培養すると、細胞同士が融合し多核の骨吸収能を持った破骨細胞が分化誘導される。この破骨細胞分化実験系を用い、Nec-7 が破骨細胞分化に与える影響を形態的、機能的に評価した。さらに Nec-7 が破骨細胞分化過程における遺伝子発現や細胞内シグナル活性に与える影響について解析した。</p> <p>【結果】 Nec-7 (1～3 μM) は濃度依存性に破骨細胞分化を抑制した。Nec-7 の作用機序について検討すべく RANKL 刺激下の NF-κB 経路および MAPK 経路の活性化を評価したが、Nec-7 の影響は認めなかった。一方、Nec-7 は破骨細胞分化に必須の転写因子である NFATc1 の発現を抑制した。そこで、NFATc1 の発現維持機構における鍵因子として重要な、RANKL 受容体である RANK に着目し、その発現量を評価した。その結果、コントロール群では破骨細胞前駆細胞の RANK 発現が破骨細胞分化後期でも維持されるのに対し、Nec-7 添加群では濃度依存性に RANK の発現低下が認められた。Nec-7 による RANK 発現抑制が NFATc1 の発現抑制に寄与している可能性をさらに検証するため、レンチウイルスを用いて RANK を破骨細胞前駆細胞に強制発現させたところ、Nec-7 存在下での NFATc1 発現と破骨細胞分化が回復した。</p> <p>【考察】以上の結果より、Nec-7 は RANK–NFATc1 シグナルを抑制し、破骨細胞分化を抑制すると考えられた。Nec-7 の分子機構についてさらに探究し、破骨細胞分化抑制機序についての理解を深めることで、骨関連疾患の新たな治療アプローチが開発できるかもしれない。</p> |   |     |      |

|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>癌の骨転移病態において、破骨細胞の過剰活性化による骨吸収の亢進は、転移巣の形成を助長するとともに、過度の骨量減少をきたし、骨折や疼痛の原因となる。そのため、破骨細胞の制御は癌の骨転移病態の治療戦略の一つとして重要である。本研究において申請者はマウス骨髄細胞から M-CSF によって誘導した破骨細胞前駆細胞を用い、ネクロスタチン-7 (Nec-7) が <i>in vitro</i> における RANKL 誘導性破骨細胞分化を濃度依存性に抑制することを発見した。また破骨細胞分化シグナルについて検討を行い、Nec-7 が分化初期に重要な NF-κB や MAPK の活性には影響を及ぼさず、分化後期に重要な、破骨細胞分化の必須転写因子 NFATc1 の発現を抑制することを明らかにした。このことから申請者は Nec-7 の NFATc1 の発現維持機構への関与を検討し、Nec-7 が RANKL 受容体である RANK の発現を抑制することを見いだした。破骨細胞前駆細胞への RANK の強制発現により、Nec-7 添加群の NFATc1 発現および破骨細胞分化が回復したことから、Nec-7 が RANK–NFATc1 シグナルを抑制することで、破骨細胞分化を抑制すると結論づけられた。</p> <p>以上の研究は、これまで知られていなかった Nec-7 の破骨細胞分化抑制という新しい効能の発見とその抑制機序の解明に貢献したものであり、癌の骨転移を含む様々な骨関連疾患の新たな治療アプローチの開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。<br/>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 12 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |  |  |  |
| 要旨公開可能日：                      年              月              日 以降  |  |  |  |